



107522602
Mod. C.E. - 1-4-7 30.09.03

REC'D EGYPTO 26 JAN 2005

EB03/2946

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

REC'D 08 OCT 2003
WIPD POT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:

Invenzione Industriale

N. MI2002 A 001666

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

03 SET. 2003

oma, li

IL DIRIGENTE

Polito Galloppo

dr. Polito GALLOPPO

BEST AVAILABLE COPY

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione JASPER LTD LIABILITY CO.Residenza CHEYENNE WYOMING U.S.A.

codice

2) Denominazione

Residenza

codice

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Dr.ssa Federica TRUPIANO (613BM) e altri

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza MARIETTI, GISLON e TRUPIANO S.r.l.via Larga

n.

16

città

MILANO

cap

20122

(prov)

MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via

n.

città

cap

(prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/ci/sci)

gruppo/sottogruppo

DERIVATI DELL'ACIDO IALURONICO

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) MANENTI, Demetrio

3)

2) AITA, Gaspare

4)

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

1)

2)

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) ☒ PROV n. pag. 123Doc. 2) ☒ PROV n. tav. 1Doc. 3) ☒ RISDoc. 4) ☒ RISDoc. 5) ☒ RISDoc. 6) ☒ RISDoc. 7) ☒

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)...

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)

~~DOCUMENTAZIONE ALLEGATA~~ Dich. Sost.

designazione inventore

documenti di priorità con traduzione in italiano

autorizzazione o atto di cessione

nominalivo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale Euro DUECENTONOVANTUNO/79

obbligatorio

COMPILATO IL 25/07/2002

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

Dr.ssa Federica TRUPIANOCONTINUA SI/NO NODEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SICAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI MILANO

MILANO

codice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 001666

Reg. A.

L'anno DUEMILADUEil giorno VEGOLISEIdel mese di LUGLIOIl(I) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, con 00 fogli aggluntivi per la concessione del brevetto sopraportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

Galweler Carmel

dell'Ufficio

L'UFFICIALE ROGANTE

M. CORTONEST.

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

MI2002A 001656

REG. A

DATA DI DEPOSITO

07/2002

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

/ /

D. TITOLO

DERIVATI DELL'ACIDO IALURONICO

L. RIASSUNTO

Derivati tra acido ialuronico ed almeno una base azotata, in particolare almeno un composto eterociclico derivato dalla purina e/o dalla pirimidina e composizioni cosmetiche e/o farmaceutiche a base di detti derivati.

M. DISEGNO



Descrizione dell'invenzione che ha per titolo:

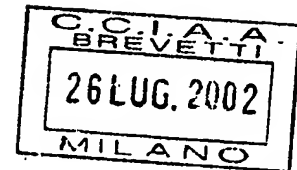
"DERIVATI DELL'ACIDO IALURONICO"

a nome: JASPER LTD LIABILITY CO.

con sede in: CHEYENNE WYOMING, U.S.A.

Inventori: MANENTI, Demetrio; AITA, Gaspare

MI 2002A 001666

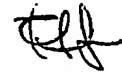


OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha per oggetto nuovi derivati dell'acido ialuronico, un procedimento per la preparazione di detti derivati, il loro impiego in campo cosmetico e/o farmaceutico e le composizioni cosmetiche e/o farmaceutiche che li comprendono.

STATO DELLA TECNICA

L'acido ialuronico è un mucopolisaccaride presente praticamente in ogni parte dell'organismo vivente ed in particolar modo nella cute. Chimicamente, l'acido ialuronico è formato da catene polimeriche lineari aventi peso molecolare da centinaia di migliaia a milioni di Dalton, nelle quali si ripetono unità disaccaridiche costituite da N-acetilglucosamina e acido glucoronico legati tra loro da legami glucosidici. L'acido ialuronico possiede la capacità di legare notevoli quantità di acqua proveniente dalla rete capillare, necessaria per tenere in soluzione i cataboliti, gli elettroliti e i gas che dai capillari si diffondono verso le cellule e viceversa, attraverso il liquido interstiziale. L'acido ialuronico svolge quindi un ruolo fondamentale nel controllare la diffusione di sostanze nutritive, ormoni, vitamine e sali inorganici del tessuto connettivo e nell'allontanare le scorie metaboliche che possono dare origine a reazioni di tipo infiammatorio. Grazie alle caratteristiche sopra indicate, l'acido ialuronico è molto sfruttato nelle preparazioni cosmetiche, ad esempio per ripristinare la giusta idratazione dei tessuti e così contrastare i processi di invecchiamento dei tessuti, in particolare della



pelle. Sono noti da tempo derivati dell'acido ialuronico realizzati mediante formazione di legami covalenti tra acido ialuronico e altri composti. Ad esempio, sono note ammidi dell'acido ialuronico, per realizzare le quali viene formato un legame covalente tra il gruppo carbossilico dell'acido ialuronico ed un gruppo amminico presente sul reagente. Questi derivati ammidici vengono preparati ad esempio mediante attivazione del gruppo carbossilico (ad esempio per trasformazione dello stesso in un estere attivato) e successiva reazione con il gruppo amminico del reagente. La reazione prevede la formazione di un nuovo legame covalente e l'eliminazione di una molecola di acqua (o ad esempio di acido cloridrico nel caso l'estere sia attivato) per ogni legame ammidico che si forma. Sono noti anche esteri dell'acido ialuronico, dove il gruppo carbossilico (eventualmente attivato in modo opportuno) ha reagito con un derivato ossidrilico a formare un nuovo legame di tipo covalente (estere) con eliminazione, anche in questo caso, di una molecola di acqua (o acido) per ogni legame di tipo estereo realizzato. Tutti questi derivati hanno in comune la caratteristica di risultare composti estremamente stabili ed in particolare resistenti all'attacco enzimatico, in modo da poter garantire, se somministrati, una maggiore resistenza e durata di effetto nel tempo.

SCOPI DELL'INVENZIONE

Scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione derivati dell'acido ialuronico che siano provvisti di legami labili e facilmente idrolizzabili in condizioni blande, anche per effetto enzimatico.

Pure scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione derivati dell'acido ialuronico caratterizzati da un'elevata efficacia in campo cosmetico e farmaceutico ed aventi caratteristiche chimico-fisiche tali da permetterne l'impiego in svariati tipi di formulazioni.

Sempre scopo del presente trovato è quello di mettere a disposizione



composizioni cosmetiche e/o farmaceutiche a base di derivati dell'acido ialuronico ed un procedimento per la loro preparazione.

DESCRIZIONE

Questi ed altri scopi ancora e relativi vantaggi che meglio saranno chiariti in seguito, vengono raggiunti da derivati tra acido ialuronico ed almeno una base azotata, in particolare almeno un composto eterociclico derivato dalla purina e/o dalla pirimidina.

Secondo il trovato, detto acido ialuronico è acido ialuronico ad alto peso molecolare, detto peso molecolare essendo compreso in un intervallo tra 400.000 e 4 milioni di Dalton, preferibilmente tra 800.000 e 3.5 milioni di Dalton ed in particolare tra 1.5 e 3 milioni di Dalton.

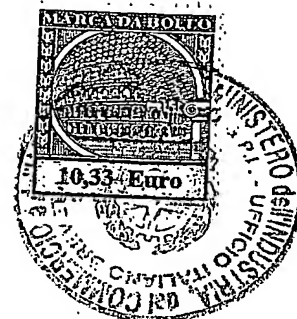
Sempre secondo l'invenzione, detto acido ialuronico è acido ialuronico a basso peso molecolare, detto peso molecolare essendo ad esempio compreso in un intervallo tra 80.000 e 400.000 Dalton.

Secondo la presente invenzione, detti derivati della purina sono scelti tra adenina e/o guanina, mentre detti derivati della pirimidina sono scelti tra timina e citosina. I suddetti derivati della purina e della pirimidina vengono comunemente indicati con il termine "basi puriniche e pirimidiniche". Sempre secondo il trovato, altri derivati della purina e pirimidina, comunemente indicati con il termine "basi minori", che possono vantaggiosamente dare derivati con l'acido ialuronico, sono i seguenti:

- 5,6 diidrouracile
- 1-metiluracile
- 3-metiluracile
- 5-idrossimetiluracile
- 2-tiouracile

[Handwritten signature]

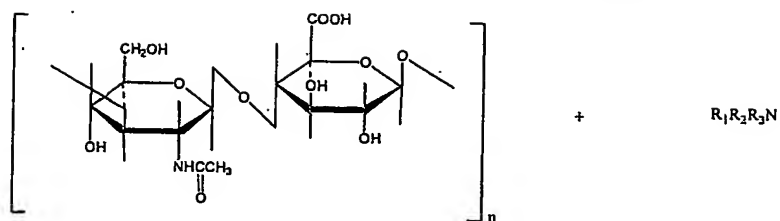
N⁴-acetilcitosina
3-metilcitosina
5-metilcitosina
5-idrossimetilcitosina
1-metiladenina
2-metiladenina
7-metiladenina
N⁶-metiladenina
N⁶, N⁶-dimetiladenina
N⁶-(²-isopentenil)adenina
1-metilguanina
7-metilguanina
N²-metilguanina
N², N²-dimetilguanina.



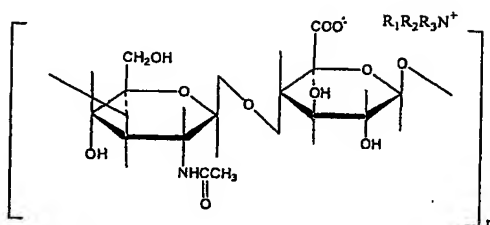
In pratica, secondo il presente trovato, l'acido ialuronico viene fatto reagire con almeno una base purinica e/o pirimidinica scelta tra quelle sopra indicate, in condizioni di reazione tali da formare almeno un legame di tipo ionico tra almeno un centro "acido" dell'acido ialuronico, quale ad esempio un gruppo carbossilico libero in forma acida o in forma di sale carbossilato, ed almeno un centro basico della base purinica e/o pirimidinica anch'esso in forma di base libera o di sale d'ammonio. Lo schema di reazione può in generale essere indicato come segue:

RF

SCHEMA 1



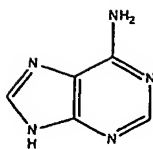
Acido ialuronico



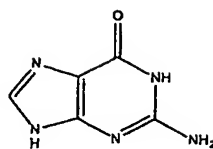
Dove $R_1R_2R_3N$ indica genericamente almeno una base purinica o pirimidinica.
Le basi più comunemente utilizzate hanno le formule seguenti:



BASI PURINICHE

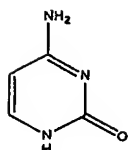


Adenina

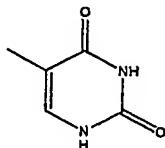


Guanina

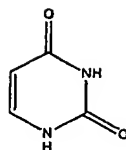
BASI PIRIMIDINICHE



- Citosina



Timina



Uracile

una caratteristica importante delle basi puriniche e pirimidiniche è la loro capacità di formare ponti idrogeno mediante i gruppi $-NH_2$ dove disponibili, i gruppi $-NH-$ e gli atomi di ossigeno fortemente elettronegativi. Almeno un gruppo amminico caratteristico delle basi di cui sopra, sia tal quali che in forma di sale, reagisce con almeno un gruppo carbossilico dell'acido ialuronico, (anch'esso tal quale in opportune condizioni di reazione o sotto forma di sale carbossilato) a dare un sale, caratterizzato dalla formazione di almeno un legame di tipo ionico tra gruppo carbossilico e gruppo amminico. Sempre secondo la presente invenzione, variando i rapporti di reazione tra acido ialuronico e basi puriniche/pirimidiniche, così come utilizzando basi diverse tra loro per stadi successivi di salificazione, è possibile preparare sali misti tra più basi puriniche/pirimidiniche in modo da ottenere un "cocktail" con specifiche caratteristiche adatte alle diverse applicazioni.

L'acido ialuronico salificato con almeno una base purinica/pirimidinica è caratterizzato da una viscosità mediamente inferiore rispetto a quella dei derivati



dell'acido ialuronico secondo l'arte nota, caratterizzati dal fatto che vengono ottenuti mediante formazione di legami covalenti. I derivati di acido ialuronico secondo la presente invenzione sono quindi caratterizzati da una minore stabilità e durata nel tempo rispetto a quelli secondo l'arte nota e questo costituisce un vantaggio perché sono in grado di rendere disponibile l'acido ialuronico tal quale, o altri prodotti o principi attivi ad esso legati, rapidamente dopo la somministrazione in quanto subiscono rapida idrolisi del legame ionico (o dei legami ionici) che li caratterizza.

Vengono qui di seguito riportati alcuni esempi di pratica realizzazione dati a solo titolo indicativo e non limitativo del presente trovato.

ESEMPIO 1 - REAZIONE TRA GUANINA ED ACIDO IALURONICO con ottenimento di IALURONATO DI GUANINA (I).

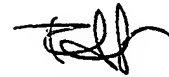
1 g di ialuronato di sodio reagisce con g 0,467 di guanina cloridrata.

La preparazione del prodotto avviene secondo le seguenti fasi:

- a) preparazione del gel di sodio ialuronato per miscelazione con acqua dello ialuronato di sodio
- b) aggiunta della guanina cloridrato al gel di sodio ialuronato
- c) liofilizzazione del prodotto.

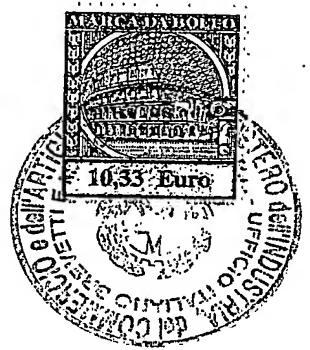
Si sospendono sotto agitazione 10 g di sodio ialuronato in 300 ml di acqua deionizzata, sino a completa gelificazione. Il prodotto si presenta limpido, incolore, omogeneo e privo di grumi.

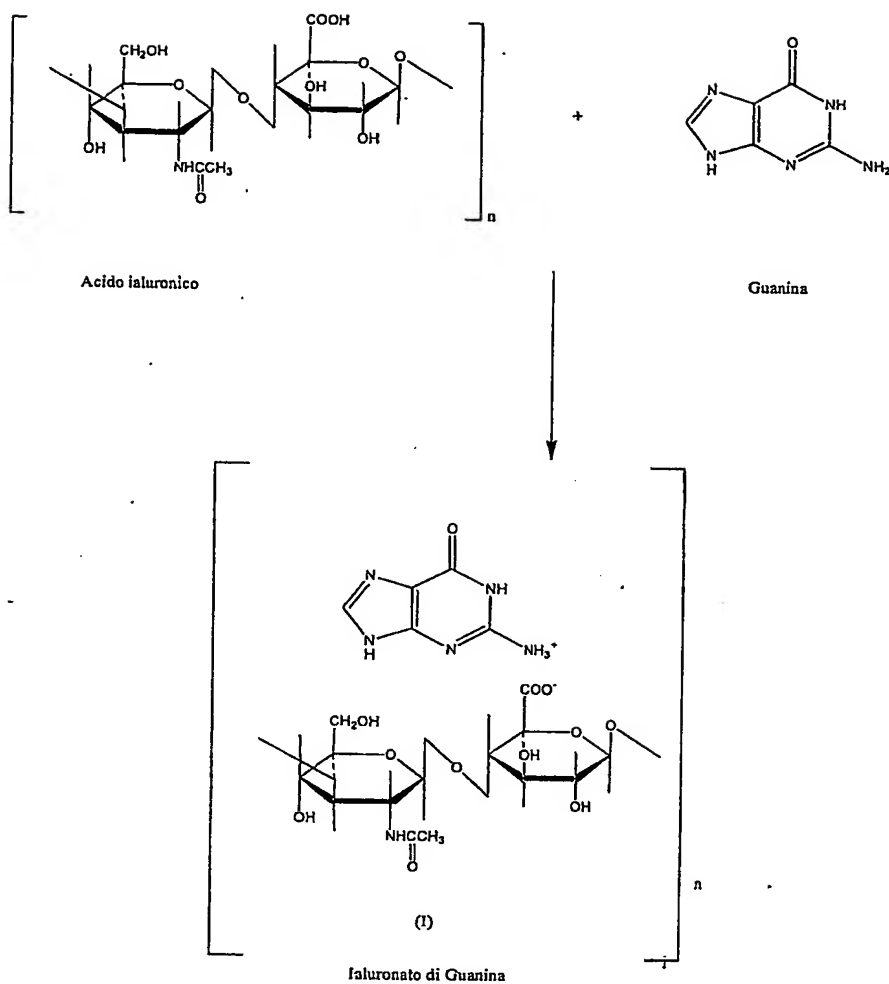
I rapporti acido ialuronico/acqua sono solo indicativi; nel caso non si intenda procedere all'essiccamento o alla liofilizzazione del prodotto e si intenda utilizzare direttamente il gel, si potranno usare maggiori quantità di acqua (sia all'inizio che a reazione ultimata) al fine di ottenere un prodotto con le caratteristiche fisiche (ad esempio viscosità) più appropriate. Al gel di ialuronato sodico precedentemente



preparato, si aggiungono lentamente e sotto agitazione 250 ml di soluzione contenente g 0,467 di guanina cloridrato, ad aggiunta ultimata si mantiene l'agitazione per circa 1 ora per ottenere la completa omogeneizzazione del prodotto. Nel caso si desideri modificare il pH del prodotto, si aggiunge sotto il controllo di un pHmetro, un acido o una base sino al raggiungimento del pH desiderato.

Il prodotto ottenuto viene mantenuto in frigo per 12 ore e quindi si procede alla sua liofilizzazione o essiccazione sotto vuoto. Una variazione alla metodica sopra descritta consiste nell'aggiungere il gel di ialuronato alla soluzione di guanina cloridrato.





Al prodotto ottenuto secondo l'esempio di cui sopra, possono essere associate altre e diverse molecole organiche che vengono ad esso coordinate mediante ponti a idrogeno.

ESEMPIO 2 - REAZIONE TRA ADENINA ED ACIDO IALURONICO con ottenimento di IALURONATO DI ADENINA (II).

1 g di ialuronato di sodio reagisce con g 0,450 di adenina cloridrato emiidrato.

La preparazione del prodotto avviene secondo le seguenti fasi:

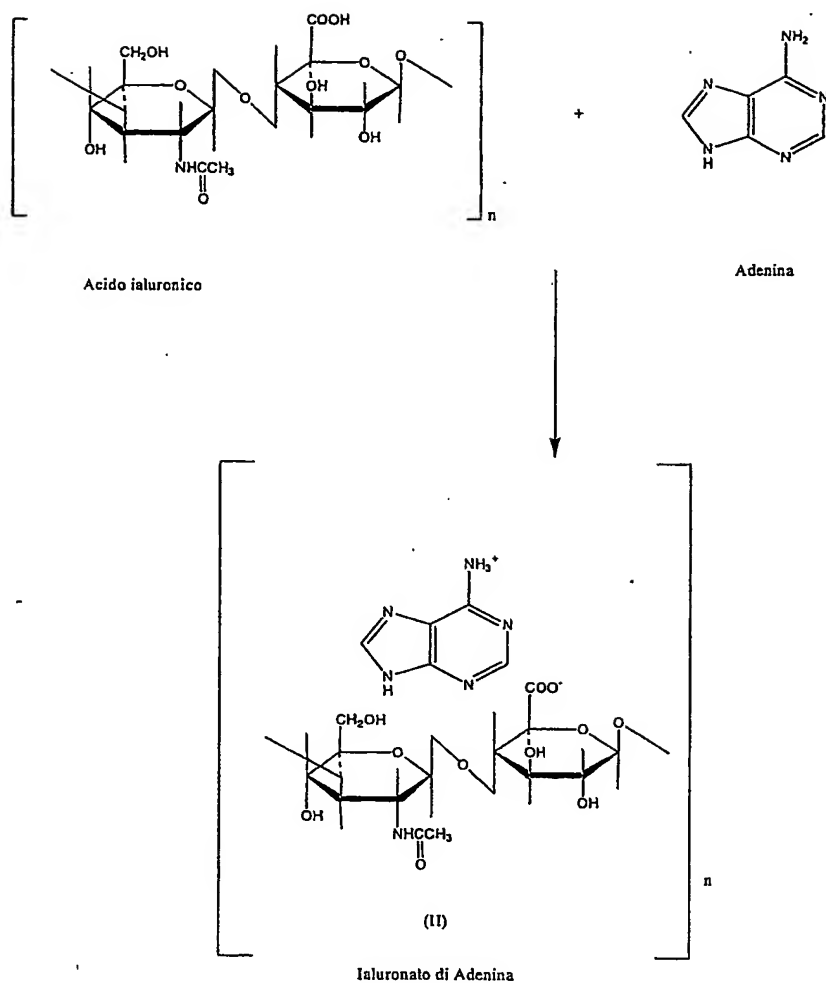


- a) preparazione del gel per miscelazione con acqua dello ialuronato di sodio
- b) aggiunta dell'adenina cloridrato emiidrato al gel di sodio ialuronato
- c) liofilizzazione del prodotto.

Si sospendono sotto agitazione 10g di sodio ialuronato in 300 ml di acqua deionizzata, sino a completa gelificazione. Il prodotto si presenta limpido, incolore, omogeneo e privo di grumi. I rapporti acido ialuronico/acqua sono solo indicativi. Nel caso non si intenda procedere all'essiccamento o alla liofilizzazione del prodotto, e si intenda utilizzare direttamente il gel, si potranno usare maggiori quantità di acqua (sia all'inizio che a reazione ultimata) al fine di ottenere un prodotto con le caratteristiche fisiche (ad esempio viscosità) più appropriate.

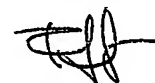
Al gel di ialuronato sodico precedentemente preparato, si aggiungono lentamente e sotto agitazione 250 ml di soluzione contenente g 4,45 di adenina cloridrata emiidrata. Ad aggiunta ultimata si mantiene l'agitazione per circa 1 ora per ottenere la completa omogeneizzazione del prodotto. Nel caso si desideri modificare il pH del prodotto si aggiunge sotto il controllo di un pHmetro un acido o una base sino al raggiungimento del pH desiderato. Si lascia a riposo in frigo per 12 ore e si procede alla liofilizzazione o all'essiccazione sotto vuoto del prodotto.

Una variazione alla metodica indicata consiste nell'aggiungere il gel di ialuronato alla soluzione di adenina cloridrato.



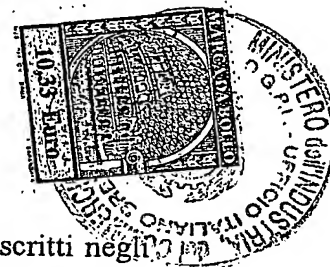
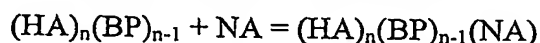
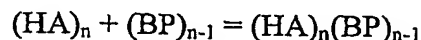
Al derivato ialuronato di adenina (II) ottenuto come descritto sopra, è possibile associare altre e diverse molecole organiche che vengono ad esso coordinate mediante ponti a idrogeno.

Gli amminoacidi naturali, i loro oligomeri ed i loro polimeri (peptidi) possono reagire con i derivati dell'acido ialuronico secondo il trovato (acido ialuronico salificato con almeno una base purinica/pirimidinica) a dare degli ulteriori prodotti di salificazione con eventuali gruppi carbossilici liberi ancora presenti. In pratica, volendo



schematizzare la reazione, ed indicando come HA (Acido Ialuronico), BP (basi Puriniche/Pirimidiniche) e NA (Amminoacidi Naturali, loro oligomeri e loro polimeri) i reagenti, si avrà lo schema seguente:

SCHEMA2



Ad esempio, lo Ialuronato di Guanina (I) o di Adenina (II) come descritti negli esempi precedenti se realizzati utilizzando un difetto di base rispetto all'acido ialuronico, possono reagire in opportune condizioni con uno o più amminoacidi naturali e/o loro oligomeri e/o loro polimeri (peptidi) per ottenere ulteriori sali dell'acido ialuronico che saranno caratterizzati oltre che dalla presenza di almeno una base purinica/pirimidinica, anche dalla presenza di almeno un amminoacido naturale o suo oligomero o polimero. Le caratteristiche del prodotto finito racchiuderanno quindi sia quelle dell'acido ialuronico che quelle delle basi puriniche e degli amminoacidi, dal momento che anche in questo caso il legame che si forma è di tipo ionico con elevata facilità all'idrolisi e quindi corrispondente disponibilità delle specie tal quali.

ESEMPIO 3- REAZIONE TRA IALURONATO DI ADENINA (II) E POLILISINA.

1 g di ialuronato di adenina (salificato al 50% con adenina) reagisce con g 0,143 di polilisina. La preparazione del prodotto avviene secondo le fasi seguenti:

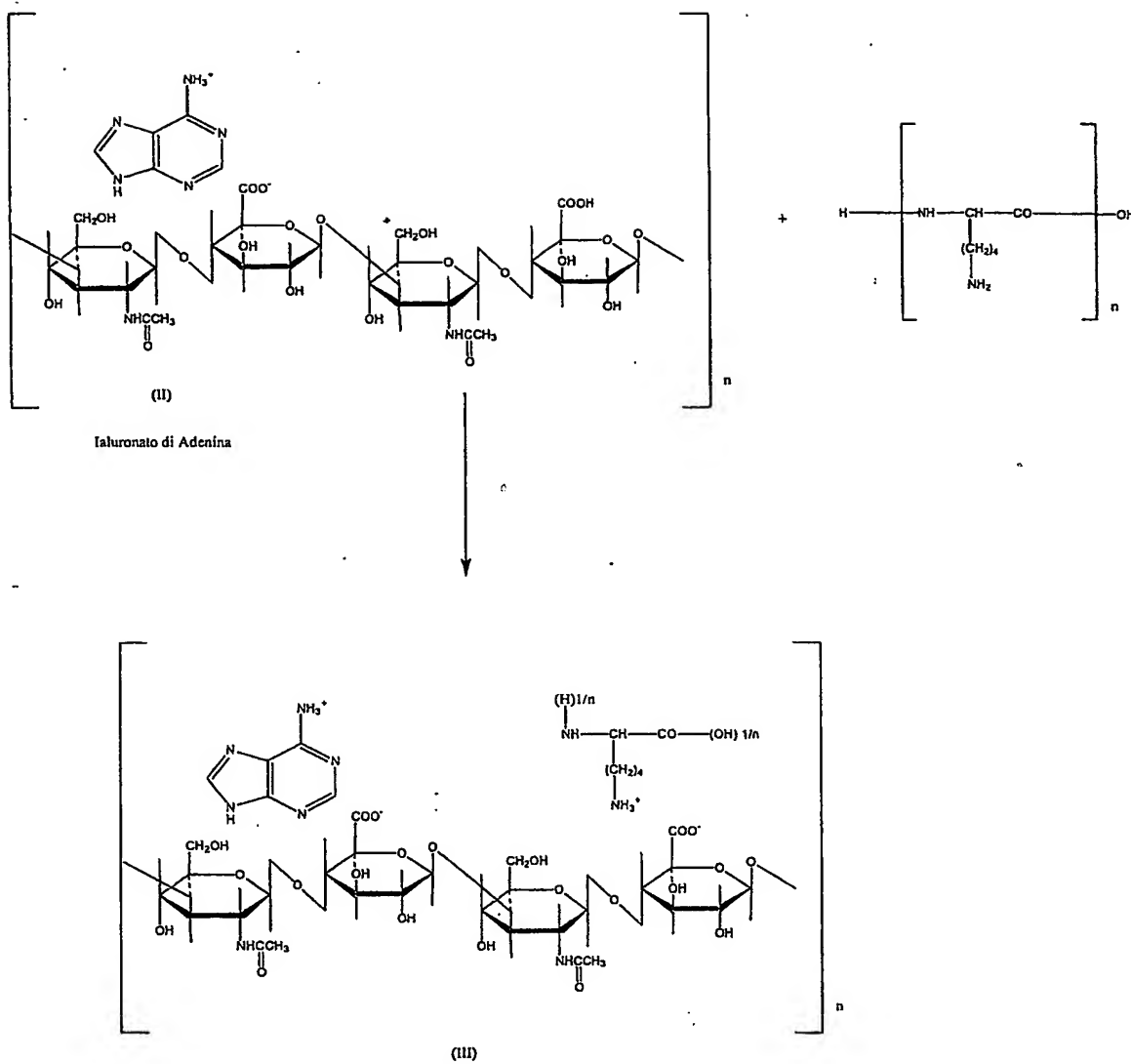
- preparazione del gel per miscelazione con acqua dell'acido ialuronico
- aggiunta della polilisina al gel di acido ialuronico
- liofilizzazione del prodotto.

Si sospendono sotto agitazione 10g di acido ialuronico in 300ml di acqua deionizzata, sino a completa gelificazione. Il prodotto si presenta limpido, incolore, omogeneo e privo di grumi. Il gel ottenuto ha pH 6,6.



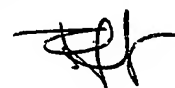
I rapporti acido ialuronico/acqua sono indicativi. Nel caso non si intenda procedere all'essiccamento o alla liofilizzazione del prodotto e si intenda utilizzare direttamente il gel, si potranno usare maggiori quantità di acqua (sia all'inizio che a reazione ultimata) al fine di ottenere un prodotto con le caratteristiche fisiche (ad esempio viscosità) più appropriate. Al gel di acido ialuronico precedentemente preparato si aggiungono lentamente e sotto agitazione 200 ml di soluzione contenente 1,51g di polilisina. Ad aggiunta ultimata si mantiene l'agitazione per circa 1 ora per ottenere la completa omogeneizzazione del prodotto. Nel caso si desideri modificare il pH del prodotto, si aggiunge sotto il controllo di un pHmetro un acido o una base sino al raggiungimento del pH desiderato. Si lascia a riposo in frigo per 12 ore e si procede alla liofilizzazione o all'essiccazione sotto vuoto del prodotto.

Una variazione alla metodica indicata consiste nell'aggiungere il gel di acido ialuronico alla soluzione di polilisina.

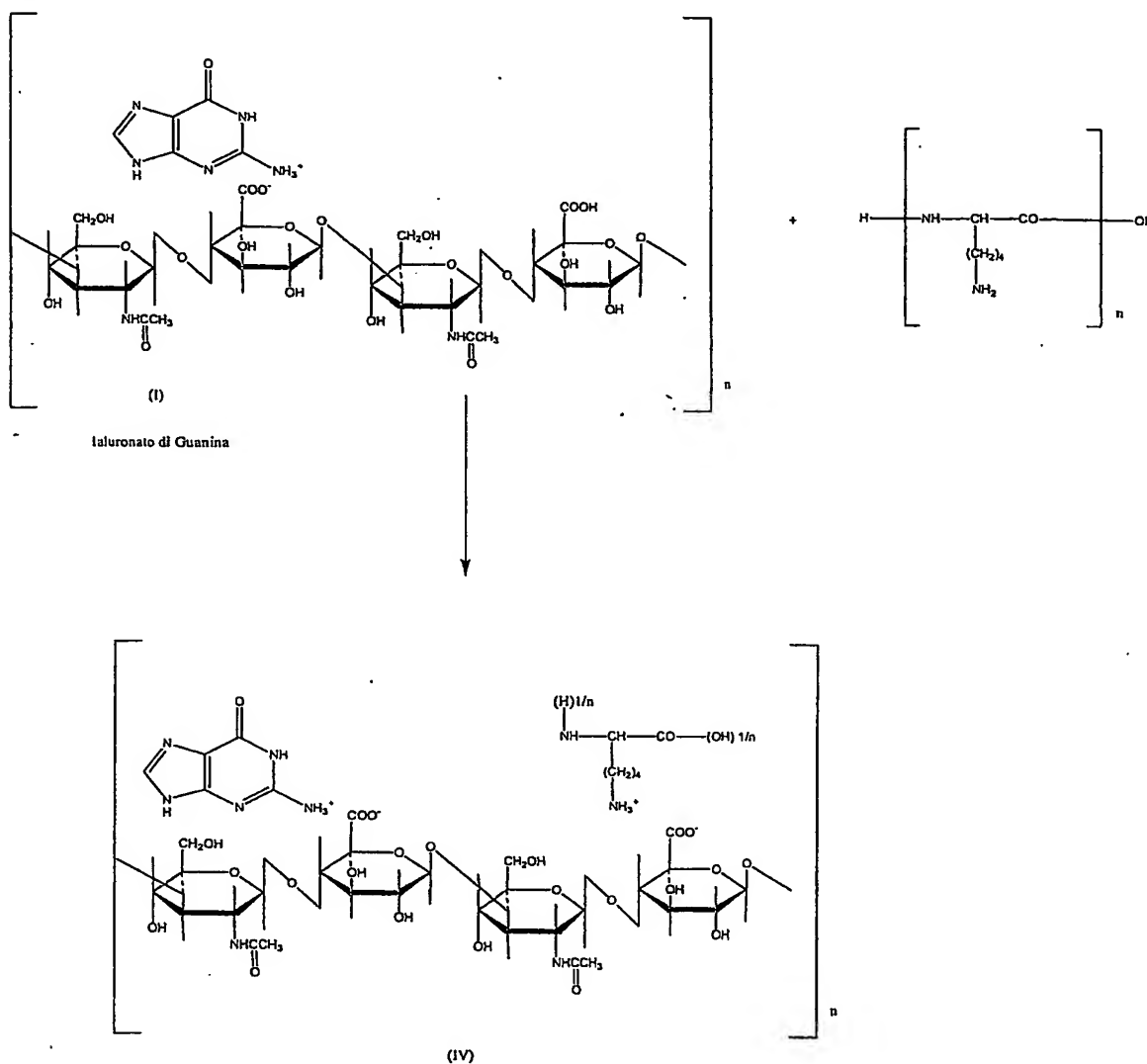
Al prodotto ottenuto è possibile associare altre e diverse molecole organiche che vengono ad esso coordinate mediante ponti a idrogeno.

Per quanto riguarda il prodotto (III) come riportato nello schema di cui sopra, si intende che l'unità derivante dalla polilisina sarà presente n volte a seconda dei rapporti molari tra i reagenti.

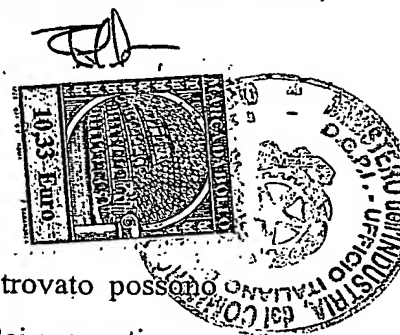


Allo stesso modo, può reagire lo ialuronato di guanina (I) con polilisina o altri oligomeri o polimeri (peptidi) degli amminoacidi.

ESEMPIO 4- REAZIONE TRA IALURONATO DI GUANINA (I) E POLILISINA.



Anche in questo caso, per quanto riguarda il prodotto (IV) come riportato nello schema di cui sopra, si intende che l'unità derivante dalla polilisina sarà presente n volte



a seconda dei rapporti molari tra i reagenti.

Le reazioni di preparazione dei derivati oggetto del presente trovato possono essere condotte utilizzando, come già detto, quantità stechiometriche dei reagenti o un eccesso di uno dei componenti. Per quantità stechiometriche dei reagenti si intende che il numero di moli di composto basico impiegato è pari al numero delle funzioni carbossiliche presenti nell'acido ialuronico. La possibilità di variare il rapporto tra moli di acido e moli di base permette di modulare le caratteristiche dei prodotti ottenibili in funzione delle proprietà desiderate.

I derivati tra acido ialuronico e basi puriniche/pirimidiniche secondo il presente trovato possono reagire anche con altri composti che siano in grado di formare legami di tipo ionico con gli eventuali gruppi carbossilici residui presenti sull'acido ialuronico. Ad esempio possono essere utilizzati per ulteriore salificazione dei derivati di acido ialuronico amminoacidi modificati, poliamminoacidi, fattori di crescita, principi attivi ad attività farmacologica, fattori inibitori dell'angiogenesi ecc.

In ciascuno dei casi sopra descritti, la possibilità di idrolizzare rapidamente il legame ionico tra i suddetti composti e l'acido ialuronico, a sua volta salificato con almeno una base purinica/pirimidinica, rende immediatamente disponibile il prodotto tal quale, ma consente di veicolarlo ed inviarlo al "target" individuato con altrettanta rapidità, grazie alla grande facilità di diffusione dei derivati dell'acido ialuronico secondo l'invenzione.

La reazione di salificazione tra acido ialuronico e base purinica/pirimidinica può avvenire mediante reazione tra acido e base libera oppure tra acido in forma di sale (carbossilato) e base pure salificata con acidi organici e/o inorganici. In quest'ultimo caso, la reazione prevede uno scambio di ioni in modo da ottenere il prodotto desiderato in opportune condizioni. La reazione può essere condotta utilizzando quantità

stechiometriche di reagenti o un eccesso di uno dei due componenti, nel qual caso si ottiene il sale ed una coordinazione del reagente in eccesso mediante la formazione di ponti a idrogeno. In questo modo è possibile modulare le caratteristiche dei derivati ialuronati (acido ialuronico e base purinica/pirimidinica) ed eventualmente di ulteriori principi attivi o altri componenti ad essi associati come più sopra descritto. Detti principi attivi o altri componenti possono essere associati ai derivati ialuronati per coordinazione mediante la formazione di ponti a idrogeno. Al prodotto ottenuto è possibile aggiungere acidi o basi sia organiche che inorganiche (ad esempio glucosamina e acido glucuronico) allo scopo di modificarne il pH ed eventualmente l'attività farmacologica, se presente.

Sempre secondo la presente invenzione, l'acido ialuronico può essere reticolato mediante formazione di legami di tipo covalente (rottura di un precedente legame di tipo covalente e formazione di un nuovo legame sempre di tipo covalente) tra catene laterali. In particolare, nella reazione di reticolazione possono essere coinvolti sia i gruppi ossidrilici (OH) che i gruppi carbossilici (COOH) presenti sulla molecola di acido ialuronico.

Ad esempio, nel caso della reazione di reticolazione mediante esterificazione dei gruppi ossidrilici, questa decorre rapidamente anche a temperatura ambiente utilizzando i cloruri degli acidi organici secondo lo schema seguente:



Dove ROH rappresenta l'acido ialuronico. La reazione può ad esempio essere condotta in un solvente inerte come clorobenzolo o in un solvente come DMF che neutralizza l'acido cloridrico prodotto dalla reazione. La reazione può essere effettuata sull'acido ialuronico libero, un suo sale inorganico o un sale organico.

Analogamente, la reazione di reticolazione mediante esterificazione dei gruppi



carbossilici, prevede ad esempio l'impiego di composti clororganici che reagiscono con i gruppi carbossilici dell'acido ialuronico secondo lo schema seguente:



Dove RCOOH rappresenta l'acido ialuronico. La reazione può essere effettuata sull'acido ialuronico libero, un suo sale inorganico (in tal caso al posto di HCl si ottiene il corrispondente sale cloridrato) o un sale organico.

ESEMPIO 5 - RETICOLAZIONE PER ESTERIFICAZIONE CON FOSGENE.

Viene preparata una soluzione acquosa di sodio ialuronato 1g in 500 ml di acqua.

Viene quindi preparata una soluzione di COCl_2 (fosgene) 0,01g - 0,005g in 20 - 50 ml di cloroformio. La quantità di fosgene riportata è semplicemente indicativa e può variare in funzione del grado di reticolazione desiderato. La soluzione di cloroformio viene aggiunta a quella di sodio ialuronato sotto agitazione, realizzando così la reticolazione. Se la reazione viene condotta in assenza di agitazione, mantenendo le due fasi (acqua e cloroformio) a contatto, nell'interfaccia si forma un film di polimero reticolato che può essere rimosso in continuo. La reazione avviene rapidamente a temperatura ambiente.

Secondo un aspetto preferito della presente invenzione, i derivati dell'acido ialuronico secondo il trovato sono utilizzati come principi attivi nella preparazione di medicinali. Essi sono adatti ad essere formulati con opportuni eccipienti, ad esempio quelli in genere utilizzati in campo cosmetico quali cera d'api, olio di jojoba, isostearil isosterato, acidi grassi, trigliceridi, glicole propilenico, alcool laurilico e idrossipropilmetilcellulosa. Possono inoltre venire addizionati a questi principi attivi stabilizzanti, antiossidanti e conservanti da soli o in combinazione tra di loro. Come stabilizzanti possono essere usati butilidrossianisolo, acido citrico, tocoferolo,



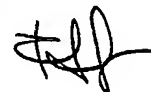
sodiotiofosfato. Come conservanti possono essere usati esteri dell'acido p-idrossibenzoico o imidazolidinurea.

Handwritten signature/initials



RIVENDICAZIONI

1. Derivato tra acido ialuronico ed almeno un composto eterociclico derivato dalla purina e/o dalla pirimidina essendo provvisto di almeno un legame di tipo ionico tra detto acido e detto almeno un composto eterociclico.
2. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto acido ialuronico è acido ialuronico ad alto peso molecolare.
3. Derivato secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che detto acido ialuronico ha un peso molecolare compreso tra 400.000 e 4 milioni di Dalton.
4. Derivato secondo la rivendicazione 3, caratterizzato dal fatto che detto acido ialuronico ha un peso molecolare compreso tra 800.000 e 3.5 milioni di Dalton.
5. Derivato secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che detto acido ialuronico ha un peso molecolare compreso tra 1.5 e 3 milioni di Dalton.
6. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto acido ialuronico è acido ialuronico a basso peso molecolare.
7. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto composto eterociclico è scelto tra: adenina, guanina, timina, citosina, uracile, 5,6 diidrouracile, 1-metiluracile, 3-metiluracile, 5-idrossimetiluracile, 2-tiouracile, N⁴-acetilcitosina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, 5-idrossimetilcitosina, 1-metiladenina, 2-metiladenina, 7-metiladenina, N⁶-metiladenina, N⁶, N⁶-dimetiladenina, N⁶-(²-isopentenil)adenina, 1-metilguanina, 7-metilguanina, N²-metilguanina, N², N²-dimetilguanina.
8. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto composto eterociclico è scelto tra adenina, guanina, timina, citosina.
9. Derivato secondo le rivendicazioni 1 e 7, caratterizzato dal fatto che detto legame di tipo ionico è realizzato tra detto acido ed almeno due di detti composti



eterociclici uguali o diversi tra loro.

10. Derivato secondo le rivendicazioni 1 e 7, caratterizzato dal fatto che è ialuronato di guanina.
11. Derivato secondo le rivendicazioni 1 e 7, caratterizzato dal fatto che è ialuronato di adenina.
12. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che è associato ad almeno un composto organico diverso.
13. Derivato secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che detto composto organico è scelto tra amminoacidi naturali, loro oligomeri e polimeri (peptidi).
14. Derivato secondo la rivendicazione 13, caratterizzato dal fatto che è ialuronato di guanina, polilisina.
15. Derivato secondo la rivendicazione 13, caratterizzato dal fatto che è ialuronato di adenina, polilisina.
16. Derivato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che è reticolato.
17. Derivato secondo la rivendicazione 16, caratterizzato dal fatto che detta reticolazione coinvolge almeno un gruppo ossidrilico e/o almeno un gruppo carbossilico presente su detto acido ialuronico.
18. Derivato secondo la rivendicazione 16, caratterizzato dal fatto che detta reticolazione è realizzata con fosgene.
19. Procedimento per la preparazione di un derivato tra acido ialuronico ed almeno un composto eterociclico secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che si pone a reagire acido ialuronico o un suo sale con almeno un composto eterociclico in forma libera o salificato.
20. Procedimento per la preparazione di un derivato secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che si pone a reagire detto derivato di acido ialuronico o un

[Handwritten signature]

suo sale con almeno un composto organico in forma libera o salificato.

21. Uso di un derivato secondo la rivendicazione 1 in campo cosmetico.
22. Uso di un derivato secondo la rivendicazione 1 in campo farmaceutico.
23. Composizioni cosmetiche o farmaceutiche comprendenti i composti di cui alla rivendicazione 1.
24. Composizioni cosmetiche o farmaceutiche comprendenti i composti di cui alla rivendicazione 12.
25. Uso delle composizioni di cui alle rivendicazioni 23 e 24 in campo cosmetico e/o farmaceutico.

Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

Federico Trupiano

